

PCT
WELTOORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)



<p>(51) Internationale Patentklassifikation ⁶:</p> <p>A61R 31/495, 31/445, 31/195, C07D 295/182, A61R 47/48</p>	<p>A2</p>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/04954</p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 3. Februar 2000 (03.02.00)</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/05145</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 20. Juli 1999 (20.07.99)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 98113519.7 20. Juli 1998 (20.07.98) EP</p> <p>(71) Anmelder (<i>für alle Bestimmungsstaaten ausser US</i>): WILEX BIOTECHNOLOGY GMBH [DE/DE]; Grillparzer Strasse 10 B, D-81675 München (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und</p> <p>(75) Erfinder/Anmelder (<i>nur für US</i>): WILHELM, Olaf [DE/DE]; Säbener Strasse 188, D-81545 München (DE). MAGDOLEN, Viktor [US/DE]; Moosacherweg 3, D-85551 Kirchheim (DE). STÜRZEBECHER, Jörg [DE/DE]; Heubertusstrasse 38, D-99094 Erfurt (DE). FOEKENS, John [NL/NL]; Filosofentuin 35, NL-2908 XA Capelle a/d IJssel (NL). LUTZ, Verena [DE/DE]; Sanks-Wolfgang-Platz 9F, D-81669 München (DE).</p> <p>(74) Anwälte: WEICKMANN, H. usw.; Kopernikusstrasse 9, D-81679 München (DE).</p>		
<p>(81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i></p>		
<p>(54) Title: NOVEL UROKINASE INHIBITORS</p> <p>(54) Bezeichnung: NEUE UROKINASE-INHIBITOREN</p> <p>(57) Abstract</p> <p>The invention relates to the use of derivatives of 3-amidino-phenyl-alanine as urokinase inhibitors for treating malignant tumors and the formation of metastases thereof.</p> <p>(57) Zusammenfassung</p> <p>Die Erfindung betrifft die Verwendung von Derivaten des 3-Amidino-phenylalanins als Urokinase-Inhibitoren zur Behandlung von malignen Tumoren und der Metastasierung.</p>		

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Amenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Somaliland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Mosambik	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die chemische jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Grönland	MW	Malawi	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
RJ	Bosnien	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MR	Mauritanien	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	NZ	Neuseeland		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PL	Polen		
CN	China	KZ	Kasachstan	PT	Portugal		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RO	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SE	Schweden		
EE	Estland			SG	Singapur		

Neue Urokinase-Inhibitoren**Beschreibung**

5

Die Erfindung betrifft die Verwendung von Derivaten des 3-Aminodiphenylalanins als Urokinase-Inhibitoren insbesondere zur Behandlung von malignen Tumoren und der Metastasierung bzw. als Mittel zum Targeting von Lymphzellen und zur Behandlung von Erkrankungen des 10 Lymphgewebes, insbesondere von Lymphomen.

Die Fähigkeit solider Tumoren zur Ausbreitung und Metastasierung in umgebendes Gewebe korreliert mit dem Abbau bzw. Umbau der extrazellulären Matrix (Tumorstroma) in der Umgebung der Tumorzelle, bzw. mit 15 deren Fähigkeit zur Durchdringung der Basalmembran. Obwohl die (patho)biochemischen Zusammenhänge noch nicht endgültig aufgeklärt sind, kommen dem Plasminogenaktivator Urokinase (uPA) und dem Urokinaserezeptor (uPAR) eine zentrale Bedeutung zu. uPA vermittelt die proteolytische Spaltung von Plasminogen zu Plasmin. Plasmin wiederum ist 20 eine Protease mit breitem Wirkspektrum, die Komponenten der extrazellulären Matrix wie Fibrin, Fibronektin, Laminin und das Proteingerüst der Proteoglykane direkt abzubauen vermag. Außerdem kann Plasmin "latente" Metalloproteasen und das inaktive Proenzym von uPA, pro-uPA, aktivieren.

25 Tumorzellen und nichtmaligne Zellen des Tumorstromas synthetisieren und sezernieren das enzymatisch inaktive Proenzym pro-uPA. Proteasen wie z.B. Plasmin oder die Kathepsine B und L spalten pro-uPA durch limitierte Proteolyse zur aktiven Serinprotease HMW-uPA (HMW = high molecular weight). pro-uPA und die aktive Protease HMW-uPA binden an den Zelloberflächenrezeptor uPAR (CD87). Plasmin(ogen) bindet ebenfalls an spezifische Rezeptoren auf der Plasmamembran der Tumorzelle, wodurch eine Fokussierung 30 und Amplifikation der Plasminogenaktivierung in der direkten Umgebung der

Tumorzelle erreicht wird. Invasiven Zellen ist somit die Möglichkeit gegeben, die extrazelluläre Matrix abzubauen, ohne sich der für eine gerichtete Bewegung notwendigen Unterlagen durch Proteolyse zu entziehen.

5 In verschiedenen zellbiologischen Studien konnte gezeigt werden, daß dem zellassoziierten Plasminogenaktivator-System innerhalb der kaskadenartigen Reaktionswege tumorassozierter Proteolysesysteme ein besonderer Stellenwert zukommt (Wilhelm et al. (1994) *The Urokinase/Urokinase receptor system: A new target for cancer therapy?* In: Schmitt M., Graeff H.,

10 Kindermann G. (Hrsg): *Prospects in Diagnosis and Treatment of Cancer*. International Congress Series, Excerpta Medica 1050, Amsterdam, Elsevier 1994, pp145-156). An Kulturen humaner Kolonkarzinomzellen wurde beobachtet, daß deren Fähigkeit, eine extrazelluläre Matrix zu durchwandern, vom Sättigungsgrad der uPA-Rezeptoren mit aktivem uPA

15 abhängig ist (Hollas et al., *Cancer Res.* 51 (1991), 3690-3695). Ebenfalls im Zellkulturmodell wurde eine Reduktion des invasiven Potentials von Zellen beobachtet, wenn die proteolytische Aktivität von uPA durch PAI-1 (Cajot et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87 (1990), 6939-6943) oder PAI-2 (Baker et al., *Cancer Res.* 50 (1990), 4676-4684) gehemmt wurde. Ein

20 vergleichbarer Effekt wurde bei Hemmung der Bindung von uPA an die Zelloberfläche durch Blockierung des Rezeptors mittels proteolytisch inaktiver uPA-Varianten erzielt (Cohen et al., *Blood* 78 (1991), 479-487; Kobayashi et al., *Br. J. Cancer* 67 (1993), 537-544). Auch die Transfektion epidermoider Karzinomzellen mit einem Plasmid, das ein Antisense-

25 Transkript gegen einen Teil von uPAR exprimiert, führte durch Unterdrückung der uPAR-Synthese zur Verringerung der Invasivität dieser Zellen (Kook, *EMBO J.* 13 (1994), 3983-3991). Gegen uPA und PAI-1 gerichtete Antikörper reduzierten das invasive Potential von Lungenkrebszellen *in vitro* (Liu et al., *Int. J. Cancer* 60 (1995), 501-506).

30 Der Einfluß des Plasminogenaktivator-Systems auf den Metastasierungsprozeß konnte auch in Tumor-Tiermodellen belegt werden. So wurden die

durch menschliche Karzinomzellen verursachte Bildung von Lungenmetastasen in Hühnerembryos durch Zugabe von Antikörpern gegen uPA fast vollständig verhindert (Ossowski und Reich, Cell 35 (1983), 611-619). Metastasierende menschliche Karzinomzellen wurden mit einem Expressionsplasmid transfiziert, das für eine proteolytisch inaktive, aber uPAR-bindende uPA-Mutante kodierte. Im Mausmodell zeigte sich, daß die Karzinomzellen, die inaktives uPA synthetisierten, nach Injektion im Vergleich zu den nichttransfizierten Zellen eine signifikant geringere Anzahl an Metastasen bildeten (Crowley et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90 (1993), 5021-5025). Nach Verabreichung von uPA-Antisense Oligonukleotiden wurde darüber hinaus eine Inhibition der intraperitonealen Ausbreitung von humangen Ovarialkarzinomzellen in Nacktmäusen beobachtet (Wilhelm et al., Clin. Exp. Metast. 13 (1995), 296-302).

In den letzten Jahren wurde die klinische Relevanz von Faktoren des Plasminogenaktivator-Systems (uPA, uPAR, PAI-1 und PAI-2) für die Prognose von Patienten mit soliden malignen Tumoren intensiv untersucht. Dabei erwies sich der uPA-Antigengehalt bei verschiedenen Tumoren (z.B. Brust, Eierstock, Magen, Lunge, Niere etc.) sowohl für das rezidivfreie Überleben als auch für das Versterben als ein starker Prognosefaktor (siehe beispielsweise Schmitt et al., J. Obstet. Gynaecol. 21 (1995), 151-165; Jaenicke et al., Breast Cancer Res. Treat. 24 (1993), 195-208; Kuhn et al., Gynecol. Oncol. 55 (1994), 401-409; Nekarda et al., Lancet 343 (1994), 117; Pedersen et al., Cancer Res. 54 (1994), 4671-4675). Ebenso korrelieren erhöhte Konzentrationen an uPAR in Lungen- (Pedersen et al., *supra*) und Brustkrebsgewebe (Duggan et al., Int. J. Cancer 61 (1995), 597-600; Ronne et al., Breast Cancer Res. Treat. 33 (1995), 199-207) sowie bei Magenkrebs sowohl im Tumorgewebe selbst (Heiss et al., J. Clin. Oncol. 13 (1995), 2084-2093) als auch bei den ins Knochenmark ausgestreuten Tumorzellen (Heiss et al., Nature Medicine 1 (1995), 1035-1039) mit einer schlechten Prognose.

Der Einsatz von synthetischen uPA-Inhibitoren bietet die Möglichkeit, die Invasion und Ausbreitung von Tumorzellen zu unterdrücken. Allerdings ist die Entwicklung spezifischer uPA-Inhibitoren mit Schwierigkeiten behaftet, da der Plasminogenaktivator von Gewebetyp (tPA) eine identische Spezifität für die Spaltung der Peptidbindung Arg560/Val561 von Plasminogen aufweist. In den meisten Fällen hemmen daher niedermolekulare uPA-Inhibitoren auch tPA und damit auch tPA-vermittelte Fibrinolyse. Außerdem muß gewährleistet sein, daß synthetische uPA Inhibitoren keine starke Hemmung von Plasmin zeigen.

Trotz dieser Einschränkungen sind einige Hemmstoffe bekannt, die eine gewisse Spezifität gegenüber uPA, jedoch geringe inhibitorische Kapazität besitzen, wie etwa Benzamidin- und β -Naphthamidin-Derivate, wobei die wirksamste Verbindung uPA mit $K_i = 2,2 \mu\text{mol/l}$ hemmt (Stürzebecher und Markwardt, Pharmazie 33 (1978), 599), oder Amilorid mit einem $K_i = 7 \mu\text{mol/l}$ (Vassalli und Belin, FEBS. Lett. 214 (1987), 187-191).

DE-A-30 35 086 offenbart Cyclohexancarbonsäurederivate, die inhibitorische Wirkungen auf Proteasen wie Trypsin, Chymotrypsin, Thrombin oder uPA haben. Die untersuchten Verbindungen zeigen jedoch nur eine recht geringe und darüber hinaus unspezifische uPA-Inhibition. EP-A-0 183 271 offenbart Lysinderivate und deren Verwendung als Proteaseinhibitoren. Es wird auch ein Benzamidino-Lysinderivat (Verbindung 108) beschrieben, das *in vitro* eine uPA-Hemmung, jedoch auch eine vergleichbare Wirkung auf andere Proteasen wie Trypsin oder Plasma-Kallikrein aufweist. WO 95/17885 offenbart niedermolekulare Polypeptide als uPA-Inhibitoren.

Eine weitere Klasse von bekannten uPA-Inhibitoren stellen 4-substituierte Benzothiophen-2-carboxamidine mit einem $K_i = 0,16 \text{ mmol/l}$ im Falle von Benzothiophen-623 dar (Towle et al., Cancer Res. 53 (1993), 2553-2559). Diese Hemmstoffe haben eine signifikant höhere Affinität für uPA im Vergleich zu tPA und Plasmin. Auch uPAR-gebundenes uPA wird mit hoher

Effizienz gehemmt. Ein Nachteil dieser Substanzen liegt allerdings darin, daß die chemische Synthese kompliziert ist und kaum Möglichkeiten für die Modifizierung der Struktur vorhanden sind, bzw. bisher gezeigt werden konnte.

5 Die Entwicklung weiterer Hemmstoffe von uPA ist daher für die weitere Aufklärung der Rolle von uPA und uPAR bei verschiedenen Krankheiten, speziell bei der Tumorausbreitung und Metastasierung, von großem Nutzen.

10 Na-Arylsulfonyl- und Na-Arylsulfonyl-amino-acyl-Derivate des 3-Amidinophenylalanins sind als selektive Hemmstoffe von Thrombin (Markwardt et al., Thromb. Res. 17 (1980), 425-431) bzw. von Gerinnungsfaktor Xa (Stürzebecher et al., Thromb. Res. 54 (1989), 245-252) bekannt. Auch in WO 92/08709, WO 94/18185 und WO 96/05189 wird die Verwendung von Amidinophenylalaninderivaten als Hemmstoffe für die Blutgerinnung, 15 insbesondere als Hemmstoffe für Thrombin, offenbart.

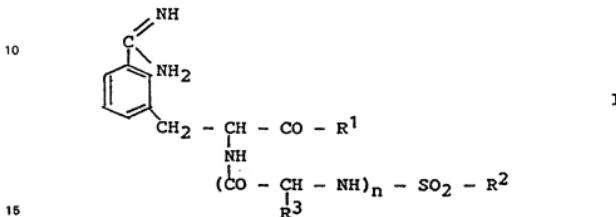
20 Intensiv wurden Piperidide und Piperazide des 3-Amidinophenylalanins untersucht, unter denen auch Leitstrukturen zur Hemmung fibrinolytischer Enzyme gefunden wurden (Stürzebecher et al., J. Enzyme Inhibition 9, 87-99, 1995; Stürzebecher et al., J. Med. Chem. 40, 3091-3099, 1997). Während bei Stürzebecher et al. (1995) nur eine Hemmung von Thrombin, Faktor Xa, Plasmin und Trypsin beschrieben ist, finden sich bei Stürzebecher et al. (1997) auch Angaben zur Hemmung von uPA. Bei Na-2-Naphthylsulfonyl-, Na-2-(2,2,5,7,8-Pentamethylchroman-6-yl)sulfonyl- und 25 Na-2-Campher-10-yl-sulfonyl-substituierten 3-Amidinophenylalaninpiperaziden wird für uPA ein K_i -Wert von 28 bis 140 $\mu\text{mol/l}$ gefunden, der um drei Größenordnungen höher als die Inhibitionskonstante für Thrombin ist. Somit konnte nicht davon ausgegangen werden, daß 3-Amidinophenylalaninderivate als Urokinaseinhibitoren geeignet sind.

30 Überraschenderweise wurde jedoch gefunden, daß an Position 2 mit einem Phenylrest substituierte 3-Amidinophenylalaninderivate selektive und in vivo

- 6 -

wirksame Hemmstoffe von uPA darstellen. Weiterhin wurde gefunden, daß diese Substanzen eine hohe Selektivität für Lymphgewebe aufweisen und sich daher als Mittel zum Targeting von Lymphzellen, beispielsweise zur Behandlung von malignen Erkrankungen des Lymphgewebes wie etwa Lymphomen eignen.

Die vorliegende Erfindung betrifft von 3-Amidinphenylalanin abgeleitete neue Urokinase-Inhibitoren der allgemeinen Formel I,



die als Racemate sowie als L- bzw. D-konfigurierte Verbindungen vorliegen und in denen

20 R1 (a) OH oder OR⁴ ist, wobei R⁴ ein gegebenenfalls z.B. mit Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituiertes, verzweigtes oder unverzweigtes C₁-C₈-Alkyl, C₃-C₆-Cycloalkyl oder Aralkyl, z.B. Benzyl oder Phenylethyl ist,

(b) eine Gruppe der Formel $\text{-N}^{\text{R}^5} \text{---} \text{R}^6$ darstellt, in welcher R^5 und

R⁶ beliebige mit der Gesamtstruktur kompatible Reste sind, wobei insbesondere

- (i) R⁵ und R⁶ H sind,
- (ii) R⁵ H ist und R⁶ ein gegebenenfalls z.B. mit Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituiertes verzweigtes oder unverzweigtes C₁-C₈-

- 7 -

Alkyl, Aralkyl, z.B. Benzyl oder Phenylethyl, oder C₅-C₈ Cycloalkyl ist,

5 (iii) R⁵ und R⁶ jeweils unabhängig ein gegebenenfalls z.B. mit Hydroxyl oder/und Halogen substituiertes, unverzweigtes oder verzweigtes C₁-C₄ Alkyl sind oder

10 (iv) R⁵ H ist und R⁶ -NH₂ oder eine insbesondere mit Aryl oder Heteroaryl substituierte Aminogruppe ist,

(v) R⁵ H oder ein gegebenenfalls z.B. mit Hydroxyl oder/und Halogen substituiertes, unverzweigtes oder verzweigtes C₁-C₄ Alkyl ist und R⁶ der Rest einer Aminosäure, z.B. einer α -, β - oder ω -Aminocarbon- oder Aminosulfonsäure, oder der Rest eines Peptids z.B. mit einer Länge bis zu 50 Aminosäuren oder eines Polypeptids z.B. mit einer Länge von mehr als 50 Aminosäuren bis 1000 Aminosäuren ist,

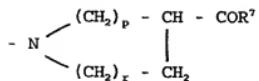
15 (c) eine Gruppe der Formel



darstellt, in welcher m die Zahl 1 oder 2 bezeichnet, und in welcher eine oder mehrere der Methylengruppen gegebenenfalls z.B. mit einem Hydroxyl-, Carboxyl-, C₁-C₄-Alkyl- oder Aralkylrest, z.B. Benzyl oder Phenylethyl, substituiert sind, wobei die Gruppe (c) racemisch oder D- bzw. L-gekennzeichnet ist, und R⁷ die Bedeutung von R¹ in den Ziffern (a), (b) und (f) aufweist,

- 8 -

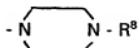
(d) eine Gruppe der Formel



darstellt, in welcher $p = r = 1$, $p = 1$ und $r = 2$ oder $p = 2$ und $r = 1$ sind und in welcher eine oder mehrere der Methylengruppen gegebenenfalls z.B. mit einem Hydroxyl-,
 10 Carboxyl-, $\text{C}_1\text{-C}_4$ -Alkyl- oder Aralkylrest, z.B. Benzyl oder Phenylethyl, substituiert sind, und R^7 die Bedeutung von R^1 in Ziffer (a), (b) und (f) aufweist,

15 (e) eine Piperidylgruppe darstellt, die gegebenenfalls in einer der Stellungen 2, 3 und 4 z.B. mit einem $\text{C}_1\text{-C}_4$ -Alkyl-, $\text{C}_1\text{-C}_3$ -Alkoxy- oder Hydroxylrest substituiert ist, wobei gegebenenfalls an die heterocycloaliphatischen Ringe der Formeln (c), (d), (e) ein weiterer aromatischer oder cycloaliphatischer Ring, vorzugsweise Phenyl oder Cyclohexyl,
 20 in 2,3 oder 3,4 Stellung, bezogen auf das Heteroatom, an kondensiert ist,

(f) eine Gruppe der Formel



darstellt, in welcher R^8

30 (i) einen gegebenenfalls z.B. mit $\text{C}_1\text{-C}_6$ -Alkyl, $\text{C}_1\text{-C}_3$ -Alkoxy, Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituierten $\text{C}_1\text{-C}_6$ -Alkyl- oder Arylrest, wie z.B. Phenyl, p -Halogenphenyl, Naphthyl,
 (ii) einen gesättigten oder ungesättigten, verzweigten oder unverzweigten $\text{C}_1\text{-C}_6$ -Alkoxyrest oder

- 9 -

(iii) einen gegebenenfalls z.B. mit C₁-C₆-Alkyl, C₁-C₃-Alkoxy, Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituierten Phenoxy- bzw. Benzylloxycarbonylrest bedeutet,

5 (g) einen Acylerest der Formel -COX darstellt, wobei X

(i) H, einen gegebenenfalls z.B. mit Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituierten, unverzweigten oder verzweigten Alkylrest, vorzugsweise einen C₁-C₆-Alkylrest, insbesondere Methyl,

10 (ii) einen gegebenenfalls z.B. mit C₁-C₆-Alkyl, C₁-C₃-Alkoxy, Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituierten Aryl- oder Heteroarylrest, wie z.B. Phenyl, p-Halogenphenyl, Thienyl oder

15 (iii) einen gegebenenfalls z.B. mit Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituierten Cycloalkylrest, vorzugsweise einen C₃-C₁₀-Cycloalkylrest bedeutet,

20 (h) einen Aralkylrest, z.B. Benzyl oder Phenylethyl, darstellt, in dem der aromatische Rest gegebenenfalls z.B. mit einem Halogenatom, einer C₁-C₆-Alkyl-, C₁-C₃-Alkoxy-, Hydroxy-, Cyano-, Carboxyl-, Sulfonyl- oder Nitrogruppe substituiert ist,

25 (i) einen Carbonsäureamidrest der Formel -CONR'R", einen Thiocarbonsäureamidrest -CSNR'R" oder einen Essigsäureamidrest -CH₂-CONR'R" darstellt, wobei

(i) R' und R" H sind,

(ii) R' und R" jeweils unabhängig C₁-C₄-Alkyl sind,

30 (iii) R' H ist und R" C₁-C₄-Alkyl ist,

(iv) R' H ist und R" Aryl, z.B. Phenyl, ist oder

- 10 -

(v) R' und R" mit dem Stickstoffatom einen heterocycloaliphatischen Ring mit 5-7 Ringgliedern, der ein weitere Heteroatom z.B. N, O oder/und S tragen kann, bilden,

5 (j) einen $\text{SO}_2\text{-Y}$ -Rest darstellt, in dem Y

(i) ein gegebenenfalls z.B. mit Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituiertes $\text{C}_1\text{-C}_6$ -Alkyl, vorzugsweise Methyl, Trifluormethyl, Trichlormethyl,

10 (ii) ein gegebenenfalls z.B. mit $\text{C}_1\text{-C}_6$ -Alkyl, $\text{C}_1\text{-C}_3$ -Alkoxy, Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituiertes Aryl oder Heteroaryl, wie z.B. Phenyl, 4-Methyl-phenyl, 2,4,6-Trimethyl-phenyl, 2,4,6-Triisopropyl-phenyl, 4-Methoxy-2,3,6-Trimethyl-phenyl, 2,2-Dimethyl-6-methoxy-chromanyl, 2,2,5,7,8-Pentamethyl-chromanyl, Anthrachinonyl, Naphthyl oder Chinolyl, bzw. O-Aryl, vorzugsweise O-Phenyl, oder O-Heteroaryl oder

15 (iii) -NR'R" ist, wobei R' und R" jeweils unabhängig H oder $\text{C}_1\text{-C}_3$ -Alkyl bedeuten,

20 (k) einen cycloaliphatischen Ring mit 5 bis 8 C-Atomen darstellt, der ggf. z.B. mit einer $\text{C}_1\text{-C}_6$ -Alkyl-, $\text{C}_1\text{-C}_3$ -Alkoxy-, Halogen-, Hydroxyl- oder/und Oxogruppe substituiert ist,

25 (l) einen gegebenenfalls z.B. mit $\text{C}_1\text{-C}_6$ -Alkyl, $\text{C}_1\text{-C}_3$ -Alkoxy, Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituierten Heteroarylrest, wie z.B. Pyridyl oder Pyrimidyl, oder heterocycloaliphatischen Rest, beispielsweise N-Methylpiperidyl darstellt,

30

- 11 -

(m) einen funktionalisierten Alkylrest der Formel -(CH₂)_n-X darstellt, wobei die Alkylkette unverzweigt oder verzweigt ist, n = 1 bis 8 bedeutet und der funktionelle Rest X

5 (i) eine Hydroxylgruppe darstellt, deren H-Atom gegebenenfalls durch eine C₁-C₄-Alkyl-, Aryl-, z.B. Benzyl oder Phenylethyl, Aryl-, z.B. Phenyl, C₁-C₄-Hydroxyl-

alkyl- oder Acylgruppe CO-Alkyl, (C₁-C₆), substituiert ist,

(ii) ein Halogenatom bedeutet,

10 (iii) eine tertiäre Aminogruppe der Formel -N(Alk)₂ darstellt, wobei die Alkylgruppen 1 bis 3 C-Atome sowie vorzugsweise die gleiche Bedeutung besitzen und das Stickstoffatom gegebenenfalls einem heterocycloaliphatischen Ring mit 5-7 Ringgliedern, der ein weiteres Heteroatom, z.B. N, O oder/und S tragen kann, angehört,

15 R² einen gegebenenfalls z.B. mit C₁-C₆-Alkyl, C₁-C₃-Alkoxy, Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituierten Phenylrest, wie beispielsweise Phenyl, 4-Methyl-phenyl, 2,4,6-Trimethyl-phenyl, 2,4,6-Triisopropyl-phenyl, 4-Methoxy-2,3,6-trimethyl-phenyl darstellt,

20 R³ H oder verzweigtes bzw. unverzweigtes C₁-C₄-Alkyl ist und n 0 oder 1 bedeutet.

25 Die Verbindungen können auch als Salze vorzugsweise als physiologisch verträgliche Säuresalze, z.B. als Salze von Mineralsäuren, besonders bevorzugt als Hydrochloride, oder als Salze von geeigneten organischen Säuren vorliegen.

30 Von den in den allgemeinen Ansprüchen definierten Verbindungen sind solche, bei denen R¹ einer Gruppe der Formeln (b), (d) und (f) entspricht, R²

- 12 -

einen einfach, zweifach oder dreifach alkylsubstituierten Phenylrest, insbesondere einen 2,4,6-substituierten Phenylrest, z.B. einen 2,4,6-Triisopropylphenyl-Rest darstellt und n = 0 ist, von besonderer Bedeutung.

5 Die Verbindungen der allgemeinen Formel I können in prinzipiell bekannter Weise, wie z.B. in WO 92/08709 und WO 94/18185 beschrieben, hergestellt und auf ihre biologische in vitro Aktivität gesetzt werden.

(L)-, (D)- oder (D,L)-3-Cyanphenylalanin-methylester-hydrochlorid wird mit 10 einem entsprechenden Sulfochlorid oder einer sulfonylierten Aminosäure bzw. deren Halogenid in Gegenwart einer Base zu einer Verbindung der allgemeinen Formel I mit Cyanfunktion, in der R¹ = OCH₃ ist und R² sowie R³ und n den in den allgemeinen Ansprüchen definierten Bedeutungen entspricht, umgesetzt. Durch milde saure oder alkalische Hydrolyse sind 15 daraus die Verbindungen der allgemeinen Formel I mit Carbonsäurestruktur (R¹ = -OH) erhältlich, deren Veresterung mit einem entsprechenden Alkohol unter säurekatalytischen Bedingungen zu Verbindungen der allgemeinen Formel I führt, wobei R¹ = (a) bedeutet. Nach einem in der Peptidchemie üblichen Verfahren, z.B. DCC-Verfahren in Gegenwart von HOBr, sind durch 20 Umsetzung der Carbonsäuren der allgemeinen Formel I (R¹ = -OH) mit einem Nukleophil der Strukturen (b), (e) und (f) die Verbindungen mit entsprechendem R¹ der allgemeinen Formel I vorstellbar. Für die Synthese von Verbindungen mit R¹ = (c) und (d) werden zunächst die Carbonsäuren der allgemeinen Formel I mit R¹ = OH mit cycloaliphatischen Aminosäureestern der Strukturen (c) und (d), wobei R⁷ vorzugsweise -OCH₃ bzw. -OC₂H₅ bedeutet, umgesetzt, die erhaltenen Carbonsäureester unter milden sauren oder alkalischen Bedingungen zu den entsprechenden Carbonsäuren 25 hydrolysiert, die nachfolgend in bereits beschriebener Weise verestert oder mit Nukleophilen der Struktur (b), (e) und (f) umgesetzt werden können, wobei Verbindungen der allgemeinen Formel I mit R¹ = (c) sowie (d) und R⁷ = (a), (b), (e) und (f) erhalten werden.

- 13 -

Die Zielverbindungen der allgemeinen Formel I mit Amidinstruktur sind aus den Cyanverbindungen in bekannter Weise erhältlich, wobei in der Regel durch Addition von H₂S an die Cyangruppe zunächst die Thioamide erhalten werden, die durch S-Methylierung mit Methyljodid in die Thioimidoester und anschließend durch Behandlung mit Ammoniumacetat in alkoholischer Lösung in die Amidinoverbindungen überführt werden. Außerdem können gegebenenfalls aus den Cyanverbindungen mit Methanol oder Ethanol in Gegenwart von HCl-Gas und in bestimmten Fällen eines inerten Lösungsmittels die entsprechenden Imidoesterhydrochloride dargestellt werden, deren Umsetzung in alkoholischer Ammoniaklösung zu den Amidinoverbindungen führt.

Die erfindungsgemäßen Urokinaseinhibitoren können gegebenenfalls zusammen mit mindestens einem geeigneten pharmazeutischen Hilfs- oder Trägerstoff zur Herstellung von oral, subkutan oder intravenös verabreichten Arzneimitteln zur Tumorbekämpfung oder in der Diagnostik verwendet werden. Ebenfalls möglich ist die Verabreichung in Kombination mit anderen Wirkstoffen, z.B. anderen Urokinaseinhibitoren wie etwa Antikörpern oder/und Peptiden.

Die Arzneimittel zur Tumorbekämpfung bei Menschen und Tieren können topisch, oral, rektal oder parenteral, z.B. subkutan oder intravenös, in Form von Tabletten, Dragees, Kapseln, Pellets, Suppositorien, Lösungen oder transdermalen Systemen, wie Pflastern, verabreicht werden.

Besonders bevorzugt handelt es sich bei der Verbindung der Formel (I) um Na-(2,4,6-Triisopropyl-phenylsulfonyl)-3-amidino-(D,L)-phenylalanin-4-ethoxycarbonyl-piperazid-hydrochlorid bzw. um das L-Entantiomere davon oder um ein pharmazeutisch verträgliches Salz dieser Verbindungen. Diese Substanzen haben ein gutes Löslichkeitsverhalten. In Trispuffer (pH 7,3) sind sie bis zu einer Konzentration von 5 x 10⁵ mol/l löslich. Durch Zusatz

- 14 -

von 5% Ethanol steigt die Löslichkeit auf 2×10^{-4} mol/l und bei Zusatz von 5% DMSO auf 10^{-3} mol/l.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind in der Lage, hocheffizient das
5 Wachstum oder/und die Ausbreitung von malignen Tumoren zu hemmen,
z.B. die Tumorausbreitung beim Pankreaskarzinom, das Tumorwachstum
des Mammakarzinoms sowie die Metastasierung von Tumoren. Dabei
können die uPA-Inhibitoren gegebenenfalls zusammen mit anderen
10 Antitumormitteln oder mit anderen Behandlungsarten, z.B. Bestrahlung oder
chirurgischen Eingriffen, eingesetzt werden. Weiterhin sind die erfindungsgemäßen
Inhibitoren auch für andere uPA-assoziierte Erkrankungen wirksam
(z.B. bei der Verhinderung der Blasenbildung bei der Hauterkrankung
Pemphigus vulgaris).

15 Erfindungsgemäße uPA Inhibitoren sind vorzugsweise dadurch gekennzeichnet,
daß sie einen mindestens zweifach, vorzugsweise mindestens 5-fach und besonders bevorzugt mindestens 10-fach geringeren K_i-Wert für uPA gegenüber tPA aufweisen. Weiterhin ist bemerkenswert, daß die
erfindungsgemäßen Verbindungen die Blutgerinnung nur geringfügig
20 beeinflussen, da sie für eine effektive Hemmung von Thrombin und Faktor Xa zu hohe K_i-Werte haben.

Die erfindungsgemäßen Substanzen der Formel I können in Form von
Konjugaten mit physiologisch wirksamen Substanzen eingesetzt werden,
25 z.B. mit Radiomarkierungen oder mit zytotoxischen Mitteln, z.B. Chemo-
therapeutika wie cis-Platin oder 5-Fluor-Urácil, oder Peptiden. Weiterhin
können die Substanzen auch in die Membran von Trägervesikeln, z.B.
Liposomen, eingebaut werden und somit ein Targeting von in den Trägervesi-
keln eingeschlossenen Wirksubstanzen, z.B. zytotoxischen Mitteln wie
30 etwa Doxorubicin ermöglichen.

- 15 -

Eine weitere Indikation für die Substanzen der allgemeinen Formel II:

X-R²

5 worin X einen beliebigen Rest, insbesondere einen organischen Rest darstellt, z.B. einen Rest wie für Verbindungen der Formel I definiert, aber auch einen anderen Rest, z.B. eine physiologisch wirksame Substanz wie etwa ein zytotoxisches Mittel, ein Peptid oder eine Radiomarkierung, ein Lipid oder ein Kohlenhydrat bedeutet, und R² eine Gruppe wie zuvor
10 definiert bedeutet, insbesondere einen 2,4,6-dreifach substituierten Phenylrest, z.B. 2,4,6-Triisopropylphenyl, ist das Targeting von Lymphzellen, welches aufgrund ihrer um den Faktor 10 bis 20 höheren Affinität für Lymphknotengewebe gegenüber anderen Gewebetypen möglich wird. Vorzugsweise ist R² über eine Sulfonylgruppe -SO₂- mit dem Rest X
15 verbunden. Somit eignen sich diese Substanzen hervorragend als Mittel zur Diagnostik oder zur Behandlung von Erkrankungen des Lymphgewebes, insbesondere malignen Erkrankungen wie etwa Tumormetastasen und Lymphomen. Die Verabreichung der Substanzen kann wie zuvor bereits beschrieben erfolgen. Eine Behandlung von Erkrankungen des Lymphgewebes erfolgt vorzugsweise durch eine mehrtägige Verabreichung des Medikaments, z.B. über einen Zeitraum von 5 bis 20 Tagen, mit einer anschließenden Behandlungspause und gegebenenfalls ein oder mehrmaligem Wiederholen der Applikation.
20
25 Die Erfindung soll an den folgenden Beispielen und Abbildungen näher erläutert werden. Es zeigen:

Figur 1 das Ergebnis einer Zytotoxizitätsbestimmung einer erfindungsgemäßen Substanz,

30 Figur 2 das Ergebnis eines Versuchs zur Inhibition des Abbaus einer Fibrinmatrix durch humane Mammakarzinomzellen,

Figuren 3

und 4 die Wirkung einer erfindungsgemäßen Substanz auf die Ausbreitung, das Wachstum und die Metastasierung von Mammakarzinomzellen in der Ratte,

5

Figur 5 die Wirkung einer erfindungsgemäßen Substanz auf das Wachstums eines Pankreastumors in der Ratte und

10

Figur 6 die Wirkung einer erfindungsgemäßen Substanz auf das Wachstum humarer Mammakarzinomzellen in Mäusen.

Beispiele

1. **Na-2,4,6-Triisopropylphenylsulfonyl-(L)-3-amidino-phenylalanin-4-ethoxycarbonyl-piperazid-hydrochlorid**

15

1.1 **Na-2,4,6-Triisopropylphenylsulfonyl-(L)-3-cyan-phenylalanin-methylester**

20

5 g (L)-3-Cyanphenylalanin-methylester wurden in 100 ml Dioxan suspendiert, 4,45 ml N-Methylmorpholin (NMM) zugefügt und 30 min gerührt. Nach Zugabe von 5,97 g 2,4,6-Triisopropylbenzolsulfochlorid in fester Form wurde 3 Tage gerührt, danach ausgefallenes NMM-HCl abfiltriert, das Lösungsmittel abdestilliert und das erhaltene Rohprodukt über Kieselgel (KG) 60 (Chloroform) gereinigt. Ausbeute: 25 8,34 g Sirup (90%).

1.2 **Na-2,4,6-Triisopropylphenylsulfonyl-(L)-3-cyan-phenylalanin**

30

8,34 g der Verbindung 1.1 wurden in einer Mischung aus je 50 ml Essigsäure und 1 N Salzsäure 8 Std. unter Rückfluß erhitzt, nach dem Erkalten 2x mit Ethylacetat extrahiert, die vereinigten Ethylacetatlö-

sungen über $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Nach Reinigung über KG 60 (Chloroform) wurden 5,8 g eines festen Produktes erhalten (72%).

5 **1.3 α -2,4,6-Triisopropylphenylsulfonyl-(L)-3-cyan-phenylalanin-4-ethoxycarbonyl-piperazid**

10 5,7 g der Verbindung 1.2 wurden in 100 ml Tetrahydrofuran (THF) gelöst, auf 0°C abgekühlt, 2,22 g α -Hydroxybenzotriazol (HOBt), 2,82 g Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) zugefügt und 30 min gerührt. Nach Zugabe von 3,94 g 1-Ethoxycarbonyl-piperazin in 30 ml THF wurde über Nacht gerührt, danach ausgefallenes Dicyclohexylurea (DCU) abfiltriert, das Lösungsmittel abdestilliert und das erhaltene Rohprodukt über KG 60 (Chloroform) gereinigt. Ausbeute: 7,1 g eines amorphen Pulvers (96%).

15 **1.4 α -2,4,6-Triisopropylphenylsulfonyl-(L)-3-amidino-phenylalanin-4-ethoxycarbonyl-piperazid Hydrochlorid**

20 7,1 g der Verbindung 1.3 wurden in 30 ml Pyridin gelöst, 30 Tropfen Triethanolamin (TEA) zugefügt, 10 min ein kräftiger Schwefelwasserstoffstrom eingeleitet und 2 Tage bei Raumtemperatur stehengelassen. Anschließend wurde das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand in Ethylacetat gelöst, die organische Phase mit 1 N Salzsäure und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. 7,2 g des auf diese Weise erhaltenen Thioamids wurden in 250 ml Aceton gelöst, die Lösung mit 17 g Methyljodid versetzt und 2 Tage bei Raumtemperatur unter Lichtschutz stehengelassen. Danach wurde das Lösungsmittel abdestilliert, das Thiomidester-hydroiodid (8,5 g) in 50 ml Methanol gelöst, 1,9 g Ammoniumacetat zugefügt und der Ansatz 4 Std. bei 60°C erwärmt. Das nach Abdestillieren des Lösungsmittels

- 18 -

erhaltene Rohprodukt wurde über Sephadex LH20 (Methanol) gereinigt. Das auf diese Weise erhaltene Amidin-hydroiodid wurde über Ionenaustauscher (Amberlite IRA-420) in das Hydrochlorid übergeführt. Ausbeute: 5,3 g eines amorphen Pulvers (69%).

5

2. **Na-2,4,6-Triisopropylphenylsufonyl-(D,L)-3-amidinopenyl-alanyl-nipecotinsäure-benzylamid Hydrochlorid**

10

2.1 **Na-2,4,6-Triisopropylphenylsufonyl-(D,L)-3-cyan-phenylalanyl-nipecotinsäure-ethylester**

15

4,56 g **Na-2,4,6-Triisopropylphenylsufonyl-(D,L)-3-cyan-phenylalanin** (aus (D,L)-3-Cyanphenylalanin-methylester-hydrochlorid und dem entsprechenden Sulfochlorid analog 1.1 und 1.2 dargestellt), 1,5 g HOBr und 2,42 g DCC wurden in 50 ml DMF gelöst, 1 Std. gerührt und danach 2,36 g Nipecotinsäure-ethylester zugefügt. Nach Röhren über Nacht wurde ausgefallenes DCU abfiltriert, das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand in wenig Methanol gelöst und zur Kristallisation stehengelassen. Der gebildete Niederschlag wurde abgesaugt, mit Methanol gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 4,46 g (75%).

20

2.2 **Na-2,4,6-Triisopropylphenylsufonyl-(D,L)-3-cyan-phenylalanyl-nipecotinsäure**

25

4,4 g des vorher beschriebenen Ethylesters wurden in einer Mischung aus 35 ml Essigsäure und 25 ml 1 N HCl 2 Std. unter Rückfluß erhitzt. Nach Zugabe von 10 ml Wasser wurde zum Erkalten stehengelassen, wobei sich ein wachsartiges Produkt abschied. Nach Abgießen des Lösungsmittels wurden 200 ml Wasser zugesetzt, längere Zeit kräftig gerührt und die erhaltene feste Substanz

30

- 19 -

abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 3,84 g (92%).

5 **2.3 $\text{Na-2,4,6-Triisopropylphenylsulfonyl-(D,L)-3-cyan-phenylalanyl-nipe-$**
tinsäure-benzylamid

10 2,28 g der vorher beschriebenen Verbindung 0,6 g HOBT und 0,97 g DCC wurden in 20 ml DMF gelöst, 1 Std. gerührt, anschließend 0,6 g Benzylamin zugefügt und weiter über Nacht gerührt. Nach Abfiltrieren des ausgefallenen DCU wurde das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand in Methanol gelöst und die Lösung in 5-proz. Natriumhydrogencarbonatlösung/Eis gegossen. Nach 1 Std. wurde der gebildete Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Ausbeute: 2,48 g (94%).

15 **2.4 $\text{Na-2,4,6-Triisopropylphenylsulfonyl-(D,L)-3-amidino-phenylalanyl-}$**
nipecotinsäure-benzylamid Hydrochlorid

20 2,4 g der Verbindung 2.3 wurden in 30 ml Pyridin gelöst, 30 Tropfen TEA zugefügt, in die Lösung 10 min Schwefelwasserstoff eingeleitet und der Ansatz 2 Tage bei Raumtemperatur stehengelassen. Anschließend wurde das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und mit 1 N HCl ausgeschüttelt. Nach Waschen der organischen Phase mit gesättigter Kochsalzlösung und Trocknen über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel abdestilliert. 2,38 g des auf diese Weise erhaltenen Thioamids wurden in 100 ml Aceton gelöst, die Lösung mit 6,5 g Methyliodid versetzt und 20 Std. bei Raumtemperatur unter Lichtschutz stehengelassen. Danach wurde das Lösungsmittel abdestilliert, das Thioimidonester-hydroiodid in 50 ml Methanol gelöst, 0,5 g Ammoniumacetat zugegeben und der Ansatz 4 Std. bei 60°C im Wasserbad erwärmt. Das nach Abdampfen des Lösungsmittels erhaltene Rohprodukt konnte über KG

- 20 -

60 gereinigt werden. Die Elution erfolgte zunächst mit Chloroform, danach mit Chloroform/Methanol 9:1. Das so gereinigte Amidin-hydroiodid wurde über Ionenaustauscher (Amberlite IRA-420) in das Hydrochlorid übergeführt. Ausbeute: 1,45 g eines amorphen Pulvers (56%).

Die Charakterisierung der Verbindungen erfolgte massenspektrometrisch, eine Reinheitsprüfung erfolgte mittels DC und HPLC.

10 3. **In vitro Hemmung von Urokinase durch ausgewählte Verbindungen der Formel I**

Konfiguration	R ¹	R ²	n	Ki, $\mu\text{mol/l}$
15 L	-N N-COOC ₂ H ₅	TIPP	0	0,41
D,L	-N N-COOC ₂ H ₅	TIPP	0	0,96

Abkürzungen: TIPP - 2,4,6-Triisopropylphenyl

20

Bestimmung der Hemmwirkung

Zur Bestimmung der Inhibitoraktivität wurden 200 μl Tris-Puffer (0,05 mol/l, den Inhibitor enthaltend, 0,154 mol/l NaCl, 5% Ethanol pH 8,0), 25 μl Substrat (Pefachrome UK oder Bz- β Ala-Gly-Arg-pNA in H₂O; Pentapharm Ltd., Basel, Schweiz) und 50 μl sc-Urokinase (Ribosepharm GmbH, Haan, Deutschland) bei 25°C inkubiert. Nach 3 min wurde die Reaktion durch Zugabe von 25 μl Essigsäure (50%) unterbrochen und die Absorption bei 405 nm mittels Microplate Reader (MR 5000, Dynatech, Denkendorf, Deutschland) bestimmt. Die K_i-Werte wurden nach Dixon durch lineare

- 21 -

Regression mittels eines Computerprogramms ermittelt. Die K_i -Werte sind das Mittel aus mindestens 3 Bestimmungen, die Standardabweichung lag unter 25%.

5 4. In vitro Hemmung verschiedener Serinproteasen vom Trypsin-Typ durch (Na-(2,4,6-Trisopropyl-phenylsulfonyl)-(L)-3-amidino-phenylalanin-4-ethoxycarbonyl-piperazid (uPA-Inhibitor) und Na-2-Naphthylsulfonyl-3-amidinophenylalanin-N'-methylpiperazid (Naphthylsulfonyl-Derivat) als Vergleich

		Ki [$\mu\text{mol/l}$]	
		uPA-Inh.	Naphthylsulfonyl-Der.
10	Urokinase	0,41	150
	Plasmin	0,39	55
	Sc-tPA	4,9	430
	Thrombin	0,49	0,036
	Faktor Xa	1,7	30
	Faktor XIIa	13	> 1000
	Plasma-Kallikrein	7,2	85
	Glandulär-Kallikrein	> 1000	> 1000
	Trypsin	0,037	1,3
15	Tryptase	6,3	33

Die Bestimmung der Hemmwirkung für die verwendeten Enzyme erfolgte nach dem in Beispiel 3 beschriebenen Prinzip.

25 Aus den oben angegebenen Werten ist ersichtlich, daß der erfindungsgemäße Urokinasehemmstoff uPA-Inhibitor überraschenderweise einen um mehr als den Faktor 10 kleineren K_i -Wert für Urokinase als für Einzelketten tPA (Sc-tPA) aufweist. Somit eignen sich die erfindungsgemäßen Substanzen als selektive Urokinaseinhibitoren. Zum Vergleich ist die Inhibitor-

30

- 22 -

aktivität des Naphthylsulfonyl-Derivats angeführt, das eine signifikant geringere in vitro Anti-uPA-Aktivität aufweist.

5. Bestimmung der Zytotoxizität

Für die Bestimmung der Zellproliferation/Zytotoxizität wurde ein kommerziell erhältlicher Test eingesetzt (Promega), welcher auf der zellulären Umsetzung eines Tetrazoliumsalzes beruht. Das aus dieser Reaktion resultierende farbige Produkt kann mittels eines ELISA-Spektrometers (ICN-Flow) 10 quantifiziert werden. Der synthetische Inhibitor (offene Kreise) hatte gegenüber dem Lösungsmittel (geschlossene Kreise) alleine keinen Einfluß auf das Zellwachstum humarer Ovarialkarzinomzellen OV-MZ-6 (Figur 1). Somit ist der erfindungsgemäße uPA-Inhibitor in pharmakologisch wirksamen Konzentrationen bis 40 μ M nicht zytotoxisch.

15

6. Inhibierung des Abbaus einer Fibrin-Matrix durch humane Mammakarzinomzellen

Zur Untersuchung der Fähigkeit von Tumorzellen eine extrazelluläre Matrix 20 abzubauen, wurde ein Fibrinmatrixabbau-Test entwickelt und verwendet. Je größer die proteolytische Aktivität der Tumorzellen, um so höher ist die Konzentration der Fibrinabbauprodukte im Matrixüberstand. Der Matrixabbaukapazität entspricht der Konzentration der Fibrinabbauprodukte, welche mittels ELISA (D-Dimer) ermittelt werden.

25 Die Fibringele wurden in 24 Well Kulturplatten aus 200 ml Fibrinogen (50 mg/ml) in PBS (pH 7,4) durch 50 μ l Thrombin (10 U/ml) und 50 μ l CaCl₂ (150 mM) pro Well nach Inkubation für 30 min bei 37°C gebildet. 2 x 10⁵ Mammakarzinomzellen wurden auf diese Fibrinmatrix in 1 ml DMEM 30 Kulturmedium, plus 10% fetalem Kälberserum und 2 μ g Glu-Plasminogen ausgesät und 4 h lang inkubiert. Danach wurde der Überstand zentrifugiert, um Zellen zu entfernen, und die Fibrinabbauprodukte mittels ELISA

- 23 -

quantifiziert. Die Zugabe des erfindungsgemäßen Inhibitors (A) in unterschiedlichen Konzentrationen führte zu einer signifikanten Inhibierung des Matrixabbaus durch Mammakarzinomzellen im Vergleich zu dem Naphthyl-Derivat (B), das keine Hemmung des Fibrinabbaus durch Mammakarzinomzellen zeigt (Figur 2).

7. **In vivo Test des uPA Inhibitors auf Tumorausbreitung, Tumorwachstum und Metastasierung in der Ratte**

10 A) **Brustkrebs-Modell**

10-25 mm³ Rattenbrustkrebs-Tumorfragmente BN-472 wurden subkutan orthotropisch unter die Fettpolster der Brustdrüse in 6 bis 15 7 Wochen alten, weiblichen Brown Norwegian Ratten transplantiert (Tag 0). Die Behandlung der Tiere wurde 24 h nach der Tumorinokulation intraperitoneal begonnen. Jede Gruppe bestand aus 8 Tieren. Die Kontrollgruppe erhielt nur Injektionslösung (100 µl einer 10% Ethanol/Saline (0,9% NaCl) Lösung). Der Vergleichsgruppe des Naphthyl-Derivats (B) und der Therapiegruppe des erfindungsgemäßen uPA-Inhibitors (A) wurden in der oben genannten Lösung eine Dosis von 1 mg/kg Körpergewicht täglich i.p. verabreicht. Die Behandlung wurde über einen Zeitraum von 4 Wochen durchgeführt.

20 Die Abmessungen der subkutanen Tumoren und die Gewichte der Tiere wurden wöchentlich bestimmt. Am Ende der Behandlung wurden die Tiere getötet und Tumorgewichte, Organgewichte und die Anzahl von Metastasen in relevanten Geweben bestimmt.

25 30 Die Behandlung mit uPA-Inhibitor (A) führte zu einer signifikanten Reduktion des Primärtumorgewichtes sowie der axillären Lymphknoten ($p = 0,003$ bzw. $p = 0,005$) im Vergleich mit dem Naphthyl-Derivat (B) und Kontrollgruppen ohne Inhibitor (Fig. 3 und 4). Die Gewichte

- 24 -

von Lunge, Leber, Niere und Milz bei den mit dem uPA-Inhibitor behandelten Tieren waren unverändert gegenüber den Kontrolltieren.

B) Pankreaskarzinom-Modell

5

Fragmente des transplantierbaren und metastasierenden Pankreasadenokarzinoms CA20948 der Ratte wurden aus Donortieren explantiert. Nach Zellvereinzelung wurden gleiche Mengen an suspendierten Tumorzellen zusammen mit 2 mg Matrikel jedem der 10 Empfängertiere, männlichen 10 Wochen alten Lewisratten (n=9), subkutan implantiert. Die Durchführung der Behandlung sowie Zusammensetzung der Therapiegruppen war identisch wie unter A).

15 Wie aus Figur 5 ersichtlich ist, findet man beim erfindungsgemäßen uPA-Inhibitor (offene Kreise) gegenüber dem Naphthyl-Derivat (geschlossene Kreise) und der Kontrollgruppe (Dreiecke) eine signifikante Verringerung des Tumorgewichts und eine Verminderung des Wachstums bei den entstehenden Ratten-Pankreaskarzinom.

20 **C) Wiederholung der Versuche mit geänderter Applikationsart**

25 Die in den Abschnitten A und B beschriebenen Versuche wurden mit geänderter Applikationsart des Inhibitors wiederholt. Dabei wurde ohne Veränderung der täglichen Dosis der Inhibitor im Mammakarzinom-Modell subkutan (n=9) und im Pankreasadenkarzinom-Modell intraperitoneal (n=8) appliziert. Die Ergebnisse dieser Wiederholungsversuche entsprachen in Tendenz und Umfang den bereits dargestellten Ergebnissen.

30

D) Zusammenfassung der Ergebnisse

5 In allen Versuchen wurde durch Behandlung mit dem Inhibitor eine erhebliche Reduktion der Tumogröße bzw. des Tumorgewichts und der Anzahl bzw. der Masse von Tochtergeschwüsten im Vergleich zu den Kontrollgruppen erreicht. Im Mammatumor-Modell waren in der Inhibitor-behandelten Gruppe, die mittleren Tumorgewichte am Ende der Behandlung auf 23% (i.p.) bzw. 37% (auf s.c.) im Vergleich zu der mit Vehikel behandelten Kontrolle reduziert. Die Anzahl der Lungenfoci in Inhibitor-behandelten Gruppen waren auf 9% (i.p.) bzw. 32% (s.c.) und die mittleren Gewichte der axillären Lymphknoten auf 27% (i.p.) bzw. 48% (s.c.) reduziert.

10

15 Im Pankreastumor-Modell waren die Massen des tumorhaltigen Pankreas in den Inhibitor-behandelten Gruppen um 76% (i.p.) bzw. 34% (s.c.), die Massen der subkutanen Tumoren um 54% (i.p.) bzw. 60% (s.c.) verglichen mit den jeweiligen Vehikel-behandelten Gruppen reduziert. Die Anzahl detekterter Leberfoci in Inhibitor-behandelten Gruppen war 29% (i.p.), bzw. 2% (s.c.) im Vergleich zu den Vehikel-behandelten Kontrollgruppen.

20

25 Die Entwicklung der Körpergewichtszunahme und der Vergleich der Organgewichte zwischen Inhibitor- und Vehikel-behandelten Gruppen ließen keine Hinweise für eine etwaige erhebliche Toxizität des Inhibitors unter den beschriebenen Bedingungen erkennen.

8. Behandlung humaner Brustkrebszellen in der Nacktmaus

Um die *in vivo* Effizienz des Inhibitors zur Hemmung des Tumorwachstums 30 humaner Mammakarzinomzellen zu testen (MDA-BA-231), wurden 6×10^6 Zellen subcutan in die rechte Flanke von Balb/c Nacktmäusen (4-6 Wochen alt) injiziert. Die Tumorzellen wurden vor Inokulation mit dem synthetischen

uPA-Inhibitor vorinkubiert. Nach 24 h wurden die Mäuse mit einer Dosis von 1,2 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal wie unter A) beschrieben zweimal wöchentlich behandelt. Die Tumogröße wurde wöchentlich durch Messung der zwei größten Durchmesser bestimmt.

5

Wie aus Figur 6 ersichtlich ist, nimmt das Tumorvolumen bei der Verabreichung des uPA-Inhibitors (offene Kreise) signifikant langsamer zu als in der Kontrollgruppe (geschlossene Kreise) wo Ethanol in Saline verabreicht wurde.

10

9. Die Biodistribution des Inhibitors in der Ratte

Die Biodistribution des Inhibitors wurde in zwei unabhängigen Versuchen in Gewebeaufschlüssen von Ratten ermittelt, die 5 bzw. 10 Tage lang täglich 15 einmal mit 1 mg/kg Inhibitor i.p. behandelt worden waren. Zum Aufschluß wurden jeweils 100 mg Gewebe mechanisch zerkleinert und mit 200 µl 1% Triton X-100 in physiologischer Kochsalzlösung vermischt. Nach Zugabe von 400 µl Ethanol wurde der Aufschluß 1 min mit Ultraschall behandelt. Der Gewebeextrakt wurde 15 min bei 12.000 x g zentrifugiert. Zur 20 Vorreinigung wurde der Überstand auf eine mit 1 ml Methanol und 1 ml Wasser equilibrierte C18-Silica Reversed Phase Vorsäule (Sep-Pak® cartridge C18, 1 ml Waters, Eschborn, Deutschland) aufgetragen, hintereinander mit 2 x 1 ml H₂O, 1 ml 10% Methanol, 1 ml H₂O, 1 ml 5% Acetonitril, 0,04% Perchlorsäure und 1 ml H₂O gewaschen und mit 500 µl 75 % Acetonitril, 25 0,04% Perchlorsäure eluiert. Die HPLC-Analytik wurde auf einer Reversed Phase C18 Silica Säule mit einem 5-55%igen Acetonitril Gradienten mit 0,04% Perchlorsäure durchgeführt.

Die Konzentrationen des Inhibitors in den jeweils untersuchten Gewebtypen (µg/g) sowie in Blutplasma und Galle (µg/ml) und zum Vergleich eines entsprechenden Naphthylsulfonylderivats sind in der nachfolgenden Tabelle dargestellt.

Tabelle

Verteilungsprofil einer erfindungsgemäßen Substanz in verschiedenen Geweben bzw. Blutplasma und Galle im Vergleich zu einem Naphthylsulfonyl-Derivat (Na-2-Naphthylsulfonyl-3-amidinophenylalanin-4-ethoxycarbonylpiperazid)

5

10

15

20

25

Gewebe	Gehalt (µg/g)		
	uPA-Inhibitor 1mg/kg i.p. 5 Tage	uPA-Inhibitor 1 mg/kg i.p. 10 Tage	Naphthylsulfonyl- Derivat 1 mg/kg i.p., 5 Tage
Milz	2,02	2,08	0,089
Leber	2,08	2,08	0,12
Niere	2,08	2,48	0,085
Muskel	0,74	< 0,5	0,008
Fett Niere	0,82	1,0	< 0,005
Herz	< 0,5	1,09	0,59
Lunge	3,70	1,81	0,020
Gehirn	< 0,5	< 0,5	
Lymphknoten Trachea	7,45	16,38	0,12
Lymphknoten Achsel	1,97	2,74	< 0,005
Lymphknoten Knie	7,83	3,8	< 0,005
Gehalt (µg/ml)			
Plasma	0,008	0,035	0,004
Galle	1,96	1,75	0,097

30

In den meisten untersuchten Gewebetypen lag nach 5 bis 10 Tagen der Inhibitor in einer Größenordnung von 1 bis 3 µg/g vor. Die Plasmakonzentrationen des Inhibitors lagen 24 h nach der jeweils letzten i.p. Applikation jeweils ein bis zwei Größenordnungen unter den mittleren Gewebekonzen-

- 28 -

trationen. Daraus kann auf eine hohe Affinität für Gewebe und eine niedrige Plasmaeiweißbindung geschlossen werden. Die Konzentrationen des im Vergleich über 5 Tage applizierten Naphthylsulfonyl-Derivats waren in den verschiedenen Geweben 20-30 fach geringer.

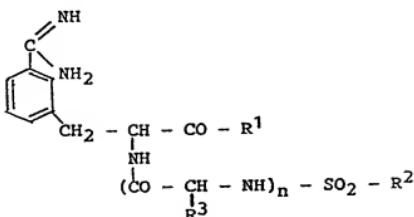
5

Der Inhibitor zeigt eine auffallende Anreicherung in den Lymphknoten. In den unabhängigen Versuchen wurden in trachealen Lymphknoten nach 5-tägiger Applikation Konzentrationen 5,3 bzw. 7,5 μ g/g, nach 10-tägiger Applikation 21,6 bzw. 16,4 μ g/g gemessen. Da Tumorzellen sich regelmäßig 10 über lymphatische Bahnen disseminieren, ist die spezifische Anreicherung des Inhibitors in den Lymphgefäßen von Bedeutung und Vorteil für dessen Einsatz als anti-metastatisches Therapeutikum.

Ansprüche

1. Verwendung von Verbindungen der Formel I

5



10

die als Racemate sowie als D- oder L-konfigurierte Verbindungen vorliegen und in denen

15

R1 (a) OH oder OR⁴ ist, wobei R⁴ ein gegebenenfalls substituiertes, verzweigtes oder unverzweigtes C₁-C₈-Alkyl, C₃-C₈-Cycloalkyl oder Aralkyl ist,

20

(b) eine Gruppe der Formel $\begin{array}{c} R^5 \\ | \\ -N \\ | \\ R^6 \end{array}$ darstellt, in welcher R⁵

und R⁶ beliebige Reste sind, wobei insbesondere

25

(i) R⁵ und R⁶ H sind,

(ii) R⁵ H ist und R⁶ ein gegebenenfalls substituiertes verzweigtes oder unverzweigtes C₁-C₈-Alkyl, Aralkyl, oder C₅-C₈ Cycloalkyl ist,

30

(iii) R⁵ und R⁶ jeweils unabhängig ein gegebenenfalls substituiertes, unverzweigtes oder verzweigtes C₁-C₄ Alkyl sind oder

(iv) R⁵ H ist und R⁶ -NH₂ oder eine insbesondere mit Aryl oder Heteroaryl substituierte Aminogruppe ist,

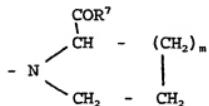
- 30 -

(v) R^5 H oder ein gegebenenfalls substituiertes, unverzweigtes oder verzweigtes C_1 - C_4 Alkyl ist oder R^6 der Rest einer Aminosäure, eines Peptids oder eines Polypeptids ist,

5

(c) eine Gruppe der Formel

10

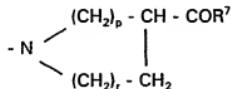


15

darstellt, in welcher m die Zahl 1 oder 2 bezeichnet, und in welcher eine oder mehrere der Methylengruppen gegebenenfalls substituiert sind, wobei die Gruppe (c) racemisch oder D- bzw. L- konfiguriert ist, und R^7 die Bedeutung von R^1 in den Ziffern (a), (b) und (f) aufweist,

20

(d) eine Gruppe der Formel



25

darstellt, in welcher $p = r = 1$, $p = 1$ und $r = 2$ oder $p = 2$ und $r = 1$ sind und in welcher eine oder mehrere der Methylengruppen gegebenenfalls substituiert sind, und R^7 die Bedeutung von R^1 in Ziffer (a), (b) und (f) aufweist.

30

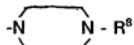
(e) eine Piperidylgruppe darstellt, die gegebenenfalls in einer der Stellungen 2, 3 und 4 substituiert ist,

- 31 -

wobei gegebenenfalls an die heterocycloaliphatischen Ringe der Formeln (c), (d), (e) ein weiterer aromatischer oder cycloaliphatischer Ring in 2,3 oder 3,4 Stellung, bezogen auf das Heteroatom, ankondensiert ist,

5

(f) eine Gruppe der Formel



10

darstellt, in welcher R⁸

15

- (i) einen gegebenenfalls substituierten C₁-C₆-Alkyl- oder Arylrest,
- (ii) einen gesättigten oder ungesättigten, verzweigten oder unverzweigten C₁-C₆-Alkoxyrest oder
- (iii) einen gegebenenfalls substituierten Phenoxy- bzw. Benzyloxy carbonylrest bedeutet,

20

(g) einen Acylrest der Formel -COX darstellt, wobei X

- (i) H, einen gegebenenfalls substituierten unverzweigten oder verzweigten Alkylrest,
- (ii) einen gegebenenfalls substituierten Aryl- oder Heteroarylrest, oder
- (iii) einen gegebenenfalls substituierten Cycloalkylrest bedeutet,

25

(h) einen Aralkylrest darstellt, in dem der aromatische Rest gegebenenfalls substituiert ist,

30

- (i) einen Carbonsäureamidrest der Formel -CONR'R'', einen Thiocarbonsäureamidrest -CSNR'R'' oder einen Essigsäureamidrest -CH₂-CONR'R'' darstellt, wobei
 - (i) R' und R'' H sind,

- 32 -

5 (ii) R' und R" jeweils unabhängig C₁-C₄-Alkyl sind,
(iii) R' H ist und R" C₁-C₄-Alkyl ist,
(iv) R' H ist und R" Aryl ist, oder
(v) R' und R" mit dem Stickstoffatom einen hetero-
cycloaliphatischen Ring mit 5-7 Ringgliedern, der
ein weiteres Heteroatom tragen kann, bilden,

10 (j) einen SO₂-Y-Rest darstellt, in dem Y
(i) ein gegebenenfalls substituiertes C₁-C₈-Alkyl,
(ii) ein gegebenenfalls substituiertes Aryl oder Hete-
roaryl bzw. O-Aryl oder O-Heteroaryl, oder
(iii) -NR'R" ist, wobei R' und R" jeweils unabhängig
H oder C₁-C₃-Alkyl bedeuten,

15 (k) einen cycloaliphatischen Ring mit 5 bis 8 C-Atomen
darstellt, der gegebenenfalls substituiert ist,
(l) einen gegebenenfalls substituierten Heteroarylrest oder
heterocycloaliphatischen Rest darstellt,

20 (m) einen funktionalisierten Alkylrest der Formel -(CH₂)_n-X
darstellt, wobei die Alkylkette unverzweigt oder ver-
zweigt ist, n = 1 bis 8 bedeutet und der funktionelle
Rest X
25 (i) eine Hydroxylgruppe darstellt, deren H-Atom
gegebenenfalls durch eine C₁-C₄-Alkyl-, Aralkyl-,
z.B. Benzyl oder Phenylethyl, Aryl-, C₁-C₄-Hy-
droxyalkyl- oder Acylgruppe CO-Alkyl (C₁-C₆),
substituiert ist,
(ii) ein Halogenatom bedeutet,
(iii) eine tertiäre Aminogruppe der Formel -N(Alk)₂
darstellt, wobei die Alkylgruppen 1 bis 3 C-

- 33 -

Atome besitzen und das Stickstoffatom gegebenenfalls einem heterocycloaliphatischen Ring mit 5-7 Ringgliedern, der ein weiteres Heteroatom, S tragen kann, angehört,

5

R² einen gegebenenfalls substituierten Phenylrest darstellt,

R³ H oder verzweigtes bzw. unverzweigtes C₁-C₄-Alkyl ist und n 0 oder 1 bedeutet.

10

oder von Salzen der Verbindungen zur Herstellung eines Mittels für die Diagnostik, Therapie und Prävention von Urokinase- oder Urokinase-rezeptor-assoziierten Krankheiten.

15 2. Verwendung nach Anspruch 1,

dadurch gekennzeichnet,

daß R¹ eine Gruppe der Formeln (b), (d) und (f) ist, R² einen 2,4,6-Triisopropylphenyl-Rest darstellt, und n=0 ist.

20 3. Verwendung nach Ansprache 1 oder 2,

dadurch gekennzeichnet,

daß die Verbindung der Formel I Na-(2,4,6-Triisopropyl-phenylsulfonyl)-3-amidino-(D,L)-phenylalanin-4-ethoxycarbonyl-piperazid, das L-Enantiomer oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz einer der Verbindungen ist.

25 4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3,

dadurch gekennzeichnet,

daß die Verbindungen in Form von physiologisch verträglichen Säuresalzen, insbesondere als Hydrochloride, vorliegen.

30

- 34 -

5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Tumorbekämpfung.
6. Verwendung nach Anspruch 5 zur Bekämpfung von Mammakarzinen,
5 Pankreaskarzinomen und der Metastasenbildung.
7. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Bekämpfung von
10 Pemphigus vulgaris.
8. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 7,
dadurch gekennzeichnet,
daß die Verbindungen der Formel I als Konjugate mit weiteren
pharmakologisch wirksamen Substanzen eingesetzt werden.
- 15 9. Verwendung nach Anspruch 8,
dadurch gekennzeichnet,
daß die Verbindungen als Konjugate mit Radiomarkierungen oder mit
zytotoxischen Substanzen eingesetzt werden.
- 20 10. Verwendung von Verbindungen der Formel II
$$X-R^2$$
worin
X einen beliebigen Rest darstellt und
R² einen gegebenenfalls substituierten Phenylrest darstellt,
25 oder von Salzen dieser Verbindungen zur Herstellung eines Mittels für
das Targeting von Lymphzellen.
11. Verwendung nach Anspruch 10, worin R² ein 2,4,6-dreifach
substituierter Phenylrest, insbesondere 2,4,6-Triisopropyl ist.
- 30 12. Verwendung nach Anspruch 10 oder 11 zur Diagnostik und Behandlung von Erkrankungen des Lymphgewebes.

- 35 -

13. Verwendung nach einem der Ansprüche 10 bis 12 zur Bekämpfung von Lymphomen und der Metastasenbildung.
- 5 14. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 13 zur Herstellung von oral, topisch, rektal oder parenteral verabreichbaren Arzneimitteln.
15. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 14 in Form von Tabletten, Dragees, Kapseln, Pellets, Suppositorien, Lösungen oder transdermalen Systemen, wie Pflastern.
- 10 16. Verfahren zur Urokinasehemmung bei Lebewesen, insbesondere beim Menschen, durch Verabreichung einer wirksamen Menge mindestens eines Urokinaseinhibitors nach einem der Ansprüche 1 bis 4.
- 15 17. Verfahren zum Targeting des Lymphgewebes bei Lebewesen, insbesondere beim Menschen, durch Verabreichung einer wirksamen Menge mindestens einer Verbindung nach einem der Ansprüche 10 bis 11.
- 20 18. $\text{Na-}(2,4,6\text{-Triisopropyl-phenylsulfonyl})\text{-3-amidino-(D,L)-phenylalanin-4-ethoxycarbonyl-piperazid}$, das L-Enantioner davon oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz einer der Verbindungen.

Fig 1

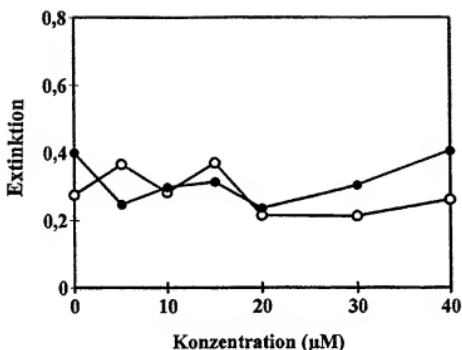


Fig 2

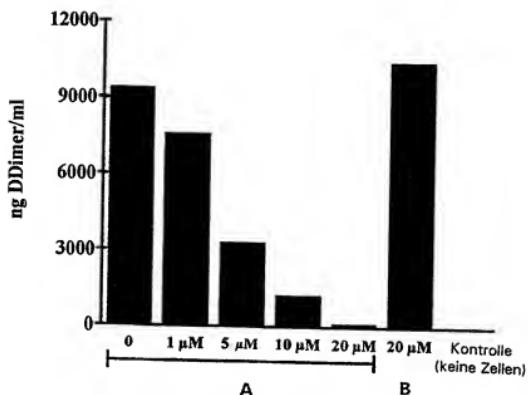


Fig 3

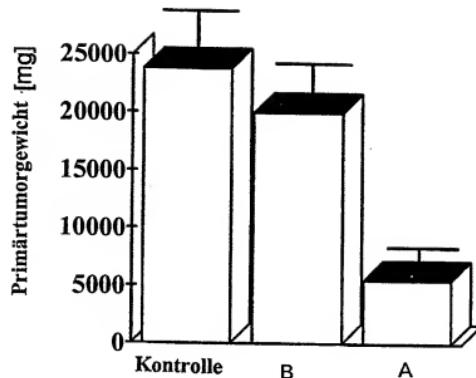


Fig 4

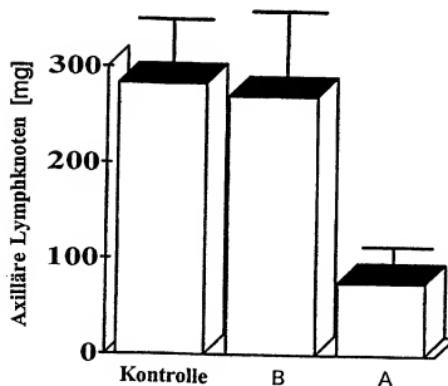


Fig 5

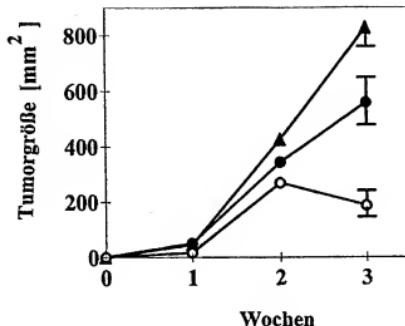


Fig 6

